

シラフルオフェン試験法

1. 分析対象化合物

シラフルオフェン

2. 装置

紫外分光光度型検出器付き高速液体クロマトグラフを用いる。

3. 試薬、試液

総則の3に示すものを用いる。

4. 標準品

シラフルオフェン 本品はシラフルオフェン97%以上を含む。

沸点 本品の沸点は200°C (減圧・0.0027 kPa) である。

5. 試験溶液の調製

a 抽出法

(1) 穀類の場合

検体を420 μmの標準網ふるいを通るように粉碎した後、その10.0 gを量り採り、水20 mLを加え、2時間放置する。

これにアセトン100 mLを加え、3分間細砕した後、ケイソウ土を1 cmの厚さに敷いたろ紙を用いてすり合わせ減圧濃縮器中に吸引ろ過する。ろ紙上の残留物を採り、アセトン50 mLを加え、3分間細砕した後、上記と同様に操作して、ろ液をその減圧濃縮器中に合わせ、40°C以下で約30 mLに濃縮する。

これをあらかじめ10%塩化ナトリウム溶液100 mLを入れた300 mLの分液漏斗に移す。*n*-ヘキサン100 mLを用いて上記の減圧濃縮器のナス型フラスコを洗い、洗液を上記の分液漏斗に合わせる。振とう機を用いて5分間激しく振り混ぜた後、静置し、*n*-ヘキサン層を300 mLの三角フラスコに移す。水層に*n*-ヘキサン50 mLを加え、上記と同様に操作して、*n*-ヘキサン層を上記の三角フラスコに合わせる。これに適量の無水硫酸ナトリウムを加え、15分間放置した後、すり合わせ減圧濃縮器中にろ過する。次いで*n*-ヘキサン20 mLを用いて三角フラスコを洗い、その洗液でろ紙上の残留物を洗う操作を2回繰り返す。両洗液をその減圧濃縮器中に合わせ、40°C以下で*n*-ヘキサンを除去する。

この残留物に*n*-ヘキサン30 mLを加え、100 mLの分液漏斗に移す。これに*n*-ヘキサン飽和アセトニトリル30 mLを加え、振とう機を用いて5分間激しく振り混ぜた後、静置し、アセトニトリル層をすり合わせ減圧濃縮器中に移す。*n*-ヘキサン層に*n*-ヘキサン飽和アセトニトリル30 mLを加え、上記と同様の操作を2回繰り返し、アセトニトリル層をその

減圧濃縮器中に合わせ、40℃以下でアセトニトリルを除去する。この残留物に*n*-ヘキサン5 mLを加えて溶かす。

(2) 果実及び抹茶の場合

果実の場合は、検体約1 kgを精密に量り、必要に応じ適量の水を量って加え、細切均一化した後、検体20.0 gに相当する量を量り採る。

抹茶の場合は、検体5.00 gを量り採り、水20 mLを加え、2時間放置する。

これにアセトン100 mLを加え、3分間細砕した後、ケイソウ土を1 cmの厚さに敷いたろ紙を用いてすり合わせ減圧濃縮器中に吸引ろ過する。ろ紙上の残留物を採り、アセトン50 mLを加え、3分間細砕した後、上記と同様に操作して、ろ液をその減圧濃縮器中に合わせ、40℃以下で約30 mLに濃縮する。

これをあらかじめ10%塩化ナトリウム溶液100 mLを入れた300 mLの分液漏斗に移す。*n*-ヘキサン100 mLを用いて上記の減圧濃縮器のナス型フラスコを洗い、洗液を上記の分液漏斗に合わせる。振とう機を用いて5分間激しく振り混ぜた後、静置し、*n*-ヘキサン層を300 mLの三角フラスコに移す。水層に*n*-ヘキサン50 mLを加え、上記と同様に操作して、*n*-ヘキサン層を上記の三角フラスコに合わせる。これに適量の無水硫酸ナトリウムを加え、15分間放置した後、すり合わせ減圧濃縮器中にろ過する。次いで*n*-ヘキサン20 mLを用いて三角フラスコを洗い、その洗液でろ紙上の残留物を洗う操作を2回繰り返す。両洗液をその減圧濃縮器中に合わせ、40℃以下で*n*-ヘキサンを除去する。この残留物に*n*-ヘキサンを加えて溶かし、正確に10 mLとする。

(3) 抹茶以外の茶の場合

検体9.00 gを100℃の水540 mLに浸し、室温で5分間放置した後、ろ過し、冷後ろ液360 mLを500 mLの三角フラスコに移す。これにアセトン100 mL及び飽和酢酸鉛溶液2 mLを加え、室温で1時間静置した後、ケイソウ土を1 cmの厚さに敷いたろ紙を用いてすり合わせ減圧濃縮器中に吸引ろ過し、ろ液を1,000 mLの分液漏斗に移す。次いでアセトン50 mLを用いて三角フラスコを洗い、その洗液でろ紙上の残留物を洗う。洗液を上記の分液漏斗に合わせる。これに塩化ナトリウム30 g及び*n*-ヘキサン100 mLを加え、振とう機を用いて5分間激しく振り混ぜた後、静置し、*n*-ヘキサン層を300 mLの三角フラスコに移す。水層に*n*-ヘキサン100 mLを加え、上記と同様に操作して、*n*-ヘキサン層を上記の三角フラスコに合わせる。これに適量の無水硫酸ナトリウムを加え、時々振り混ぜながら15分間放置した後、すり合わせ減圧濃縮器中にろ過する。次いで*n*-ヘキサン20 mLを用いて三角フラスコを洗い、その洗液でろ紙上の残留物を洗う操作を2回繰り返す。両洗液をその減圧濃縮器中に合わせ、40℃以下で*n*-ヘキサンを除去する。この残留物に*n*-ヘキサン5 mLを加えて溶かす。

b 精製法

(1) 合成ケイ酸マグネシウムカラムクロマトグラフィー

内径15 mm, 長さ300 mmのクロマトグラフ管に, カラムクロマトグラフィー用合成ケイ酸マグネシウム5 gを*n*-ヘキサンに懸濁したもの, 次いでその上に無水硫酸ナトリウム約5 gを入れ, カラムの上端に少量の*n*-ヘキサンが残る程度まで*n*-ヘキサンを流出させる。このカラムに a 抽出法で得られた溶液 (抹茶の場合は5 mL) を注入した後, *n*-ヘキサン40 mLを注入し, 流出液は捨てる。次いでエーテル及び*n*-ヘキサンの混液 (1 : 49) 50 mLを注入し, 流出液をすり合わせ減圧濃縮器中に採り, 40°C以下でエーテル及び*n*-ヘキサンを除去する。この残留物に*n*-ヘキサン5 mLを加えて溶かす。

(2) シリカゲルカラムクロマトグラフィー

内径15 mm, 長さ300 mmのクロマトグラフ管に, カラムクロマトグラフィー用シリカゲル (粒径63~200 µm) 5 gを*n*-ヘキサンに懸濁したもの, 次いでその上に無水硫酸ナトリウム約5 gを入れ, カラムの上端に少量の*n*-ヘキサンが残る程度まで*n*-ヘキサンを流出させる。このカラムに(1) 合成ケイ酸マグネシウムカラムクロマトグラフィーで得られた溶液を注入した後, エーテル及び*n*-ヘキサンの混液 (1 : 99) 40 mLを注入し, 流出液は捨てる。次いでエーテル及び*n*-ヘキサンの混液 (1 : 24) 50 mLを注入し, 流出液をすり合わせ減圧濃縮器中に採り, 40°C以下でエーテル及び*n*-ヘキサンを除去する。この残留物にアセトニトリル, 水及びメタノールの混液 (7 : 1 : 2) を加えて溶かし, 正確に2 mLとして, これを試験溶液とする。

6. 操作法

a 定性試験

次の操作条件で試験を行う。試験結果は標準品と一致しなければならない。

操作条件

カラム充てん剤 オクタデシルシリル化シリカゲル (粒径5 µm) を用いる。

クロマトグラフ管 内径2~6 mm, 長さ150~300 mmのステンレス管を用いる。

カラム温度 40°C

検出器 波長230 nmで操作する。

移動相 アセトニトリル, 水及びメタノールの混液 (7 : 1 : 2) を用いる。シラフルオフェンが約10分で流出する流速に調整する。

b 定量試験

a 定性試験と同様の操作条件で得られた試験結果に基づき, ピーク高法又はピーク面積法により定量を行う。

7. 定量限界

0.05 mg/kg

8. 留意事項

なし

9. 参考文献

なし

10. 類型

A